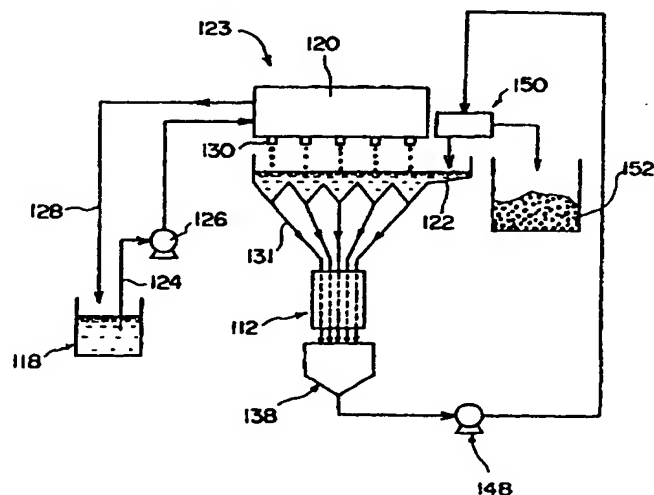




(51) 国際特許分類6 C08J 3/14, C12N 11/04	A1	(11) 国際公開番号 WO97/19978  (43) 国際公開日 1997年6月5日(05.06.97)
(21) 国際出願番号 PCT/JP96/03439 (22) 国際出願日 1996年11月22日(22.11.96) (30) 優先権データ 特願平7/331223 1995年11月28日(28.11.95) JP 特願平8/216920 1996年7月31日(31.07.96) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 関西ペイント株式会社(KANSAI PAINT CO., LTD.)(JP/JP) 〒661 兵庫県尼崎市神崎町33番1号 Hyogo, (JP) (72) 発明者: および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 菊田 眞人(KIKUTA, Makoto)(JP/JP) 〒244 神奈川県横浜市戸塚区上倉田町1372-2 戸塚ガーデンハウスB-103 Kanagawa, (JP) 泉田 仁(IZUMIDA, Hitoshi)(JP/JP) 〒254 神奈川県平塚市真土580 関西ペイント社宅2-54 Kanagawa, (JP) 名西 靖(NANISHI, Kiyoshi)(JP/JP) 〒254 神奈川県平塚市老松町6-10-402 Kanagawa, (JP)		平間敏郎(HIRAMA, Toshiro)(JP/JP) 〒251 神奈川県藤沢市辻堂東海岸2-7-25 Kanagawa, (JP) (74) 代理人 弁理士 小田島平吉, 外(ODAJIMA, Heikichi et al.) 〒107 東京都港区赤坂1丁目9番15号 日本自転車会館 小田島特許事務所 Tokyo, (JP) (81) 指定国 CN, JP, US, 欧州特許 (DE, FR, GB). 添付公開書類 国際調査報告書

(54)Title: GRANULAR CARRIER FOR IMMOBILIZING MICROBIAL CELLS AND APPARATUS FOR PRODUCING THE GRANULAR CARRIER

(54)発明の名称 微生物菌体固定化用粒状担体及び粒状担体の製造装置



(57) Abstract

A granular carrier for immobilizing microbial cells, produced by dropping a liquid composition comprising: (a) a hydrophilic photocurable resin having at least two ethylenically unsaturated bonds per molecule, (b) a photopolymerization initiator, and (c) a water-soluble high-molecular polysaccharide capable of gelling upon contact with alkali metal ions or polyvalent metal ions into an aqueous medium containing alkali metal ions or polyvalent metal ions to thereby cause the composition to gel in the form of granules, and irradiating the granular gel with actinic rays to cure the same. It has a specific gravity of 1.00 to 1.20 and a contact angle of the surface with n-paraffin of 2 to 30°, and its surface is suitable for microorganism deposition.

## (57) 要約

微生物菌体固定化用粒状担体及びその製造装置。微生物菌体固定化用粒状担体は、(a) 1分子中に少なくとも2個のエチレン性不飽和結合を有する親水性光硬化性樹脂、(b) 光重合開始剤、及び(c) アルカリ金属イオンまたは多価金属イオンとの接触によりゲル化する能力のある水溶性高分子多糖類を含んでなる液状組成物を、アルカリ金属イオンまたは多価金属イオンを含有する水性媒体中に滴下して該組成物を粒状にゲル化し、活性光線を照射して硬化せしめてなり、比重が1.00～1.20で且つ表面がn-パラフィンとのなす接触角が2°～30°であり、微生物の付着に適した表面を有する。

## 情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願をパンフレット第一頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AL	アルバニア	EE	エストニア	LR	リベリア	RU	ロシア連邦
AM	アルメニア	ES	スペイン	LS	レソト	SD	スーダン
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LT	リトアニア	SE	スウェーデン
AU	オーストラリア	FR	フランス	LU	ルクセンブルグ	SG	シンガポール
AZ	アゼルバイジャン	GB	イギリス	LV	ラトヴィア	SI	スロベニア
BB	バルバドス	GE	グルジア	MC	モナコ	SK	スロバキア共和国
BE	ベルギー	GH	ガーナ	MD	モルドバ	SN	セネガル
BF	ブルキナ・ファソ	GR	ギリシャ	MG	マダガスカル	SZ	スワジランド
BG	ブルガリア	HU	ハンガリー	MK	マケドニア	TD	チャド
BJ	ベナン	IE	アイルランド	ML	マリ共和国	TG	トーゴ
BR	ブラジル	IS	アイスランド	MN	モンゴル	TJ	タジキスタン
CA	カナダ	IT	イタリア	MR	モーリタニア	TM	トルクメニスタン
CF	中央アフリカ共和国	JP	日本	MW	モザンビーク	TR	トルコ
CG	コンゴ	KE	ケニア	MX	メキシコ	TT	トリニダード・トバゴ
CH	スイス	KG	キルギスタン	NE	ニジェール	UA	ウクライナ
CI	コート・ジボアール	KP	朝鮮民主主義人民共和国	NL	オランダ	UG	ウガンダ
CM	カメルーン	KR	大韓民国	NZ	ニュージーランド	US	米国
CN	中国	KZ	カザフスタン	NO	ノルウェー	UZ	ウズベキスタン共和国
CZ	チェコ共和国	LI	リヒテンシュタイン	PT	ポルトガル	VN	ベトナム
DE	ドイツ	LK	スリランカ	RO	ルーマニア	YU	ユーゴスラビア
DK	デンマーク						

## 明 細 書

## 微生物菌体固定化用粒状担体及び粒状担体の製造装置

## 技術分野

本発明は、微生物菌体を固定化するための粒状担体及び粒状担体を製造する装置に関し、さらに詳しくは、微生物懸濁液中に微生物菌体固定化用担体を加え賦活することにより、担体表面に微生物を容易に付着固定化させることが可能な微生物菌体固定化用粒状担体及び粒状担体を製造する装置に関する。

## 背景技術

固定化微生物は、バイオリアクター中で用いることにより、効率的な連続発酵を可能にするため、近年注目されている。

微生物の固定化法としては、従来から、包括法および物理的吸着法等多くの方法が知られているが、包括法による固定化は、あらかじめ培養した微生物懸濁液を高分子ゲル中に包み込む煩雑な操作が必要であるため、価格が非常に高価となるという問題があった。

また、物理的吸着法は、担体を微生物懸濁液中に投げ込むだけで固定化することができ、包括法のように微生物を包括する操作を必要としないという利点を有している。そして物理的吸着法に用いる担体としては、活性炭、多孔性ガラス、セライト、キチン、セルロース等の担体が知られている。

しかしながら、これらの担体は、表面の構造が微生物の付着に適していないため微生物の付着量が少ないという問題があったり、担体によっては、比重が重いため発酵槽またはバイオリアクター内での流動を起こすことが困難であるという欠点があった。

本発明は、表面の構造が微生物の付着に適しており、且つ比重が1.00～1.20の範囲内にある発酵槽またはバイオリアクター中での流動性を損なわない微生物菌体を固定化するための粒状担体を提供することを第1の目的とするものである。

5      また上記粒状担体を製造する装置としては、例えば、特開平1-118529号公報に開示されている。この公報に開示された装置によると、滴下した粒状ゲルを粒子が1列に並ぶようにシャーレに取られ、振動させながら高圧水銀灯で紫外線を照射する。

10      この装置は、一定の光強度で照射は可能であるが、連続生産ではなく生産効率が極めて低いという課題を有する。

また、本発明者は、滴下した粒状ゲルを透明のスパイラル管で移動させ、その際に活性光線を照射して粒状物を製造する装置を先に提案した（特開昭60-106836号公報）。

15      この、先に提案した装置を、図1を参照して説明する。この装置は、光硬化性樹脂、重合開始剤、ゲル化する能力のある水溶性多糖類を含む液状組成物を収容するタンク18、液状組成物をノズルから滴下する滴下装置20、および多価金属イオンを含む水性媒体を収容するゲル化容器22を具備する。

20      液状組成物は、タンク18から滴下装置20へ輸送用チューブ24を介して供給される。滴下装置20は所定量の液状組成物を保存しており、下方位置にノズル30を備えていて、ノズルの先端から液状組成物を滴下するようになっている。液状組成物の液滴は、ゲル化容器22に収容された多価金属イオンを含む水性媒体中に落下してゲル化した後、ゲル化容器22の底面に接続されたチューブ31を通して光照射部12へ供

給される。

液状ゲルはスパイラル状の透明管 3 4 内を水性媒体とともに降下してゆく際に、接近して配置された光源 3 2 から活性光線が照射されて、粒状物中の光硬化樹脂が光反応を起こす。光反応で強度を増した粒状物は  
5 粒子回収部 1 4 へ移動し、回収容器に溜められる。一方、水性媒体はポンプ 4 8 でゲル化容器 2 2 へ返送され、繰り返し使用される。

この粒状物製造装置は連続生産と比較的長時間の光照射が可能である等の優れた利点を有する。

しかし、以下のような解決すべき課題があることが明らかになった。

10 a) 1 本の管に対し少なくとも 1 本以上の光源が必要であり、生産効率が低い。

b) 管内で粒状ゲルはほぼ水平方向に流れるため、粒状ゲルと媒体との密度差がある場合には粒子の密集による遮蔽効果で照射効率が減少する。また粒子の密集を解消するため流速を増加すると、管長が長くなって装置スペースが増大する。  
15

c) 透明スパイラル管の材質がプラスチックの場合には紫外線による劣化が速いため耐久性に劣り、ガラスの場合には大型化した時の取扱いが容易でなくかつコスト高になる。

d) 回収容器 4 0 に粒状物が溜まったら取り出すバッチ方式であるため、粒状物の排出操作が複雑である。  
20

e) 回収容器 4 0 から粒状物を取り出す際、水性媒体も持ち出されるので、別途粒状物と水性媒体との分離および回収容器への水性媒体の補給が必要になる。

本発明は、これらの課題に鑑みてなされ、固定化用粒状担体として光

硬化性樹脂を含む粒状物を大量にかつ効率的に生産する装置を提供することを第2の目的とするものである。

#### 発明の開示

本発明者らは、上記した目的を達成するために鋭意検討を重ねた結果、  
5 微生物の付着には、担体と微生物の水素結合や担体の疎水部分と微生物の細胞壁の疎水部分との疎水結合などが関与することが知られているが、担体の表面が強い親水性であると、担体の疎水部分と微生物の細胞壁の疎水部分との疎水結合の力が弱くなり、また、担体の表面が強い疎水性であると担体と微生物の水素結合の力が弱くなるため、担体の表面に微生物が付着するためには、適当な親水疎水バランスを持った表面が必要  
10 であることを見出し、また、担体として合成樹脂を用いることにより比重を水とほぼ同じように軽くすることができ、また比重を重くする場合は比重の重いシリカ微粉末等を添加することによって容易にできるという知見に基づいて本発明の微生物菌体固定化用粒状担体とそれを製造  
15 する装置を完成するに至った。

かくして、本発明に従えば、

(a) 1分子中に少なくとも2個のエチレン性不飽和結合を有する親水性光硬化性樹脂、(b) 光重合開始剤、及び(c) アルカリ金属イオンまたは多価金属イオンとの接触によりゲル化する能力のある水溶性高分子多糖類を含んでなる液状組成物を、アルカリ金属イオンまたは多価金属イオンを含有する水性媒体中に滴下して該組成物を粒状にゲル化し、  
20 活性光線を照射して硬化せしめてなる、比重が1.00～1.20で且つ表面がn-パラフィンとのなす接触角が2°～30°であることを特徴とする微生物の付着に適した表面を有する微生物菌体固定化用粒状担体、

及び、

(a) 1分子中に少なくとも2個のエチレン性不飽和結合を有する親水性光硬化性樹脂、(b) 光重合開始剤、及び(c) アルカリ金属イオンまたは多価金属イオンとの接触によりゲル化する能力のある水溶性高分子多糖類を含んでなる液状組成物を、アルカリ金属イオンまたは多価金属イオンを含有する水性媒体中に滴下して該組成物をゲル化して粒状ゲルを形成するゲル化装置と、該ゲル化装置によって形成された粒状ゲルに紫外線を照射して、粒状ゲル中の光硬化性樹脂を硬化させて粒状物を形成する光照射装置とを具備する粒状物製造装置において、

該光照射装置が、光源と、該光源に接近して略鉛直に配置され、上記粒状ゲルが内部を移動せしめられる複数の透明管を備えていることを特徴とする粒状物製造装置が提供される。

以下、本発明についてさらに詳しく説明する。

#### (a) 光硬化性樹脂

本発明において、微生物菌体固定化用担体の1つとして、1分子中に少なくとも2個のエチレン性不飽和結合を有する光硬化性樹脂を使用する。該光硬化性樹脂は、一般に、300～30000、好ましくは500～20000の範囲内の数平均分子量を有することができ、水性媒体中に均一に分散するに十分なイオン性又は非イオン性の親水性基、例えば水酸基、アミノ基、カルボキシル基、リン酸基、スルホン酸基、エーテル結合等を含み、かつ波長が約250～約600nmの範囲内の活性光線を照射したとき、硬化して水に不溶性の樹脂に変わるものが好適に使用される。そのような光硬化性樹脂は、包括固定化用の固定化担体と

して既に知られているものを用いることができる（例えば、特公昭55-40号公報、特公昭55-20676号公報、特公昭62-19837号公報等参照）。代表的なものとしては以下に記載するものを挙げる  
ことができる。

5       (i) ポリアルキレングリコールの両末端に光重合可能なエチレン性  
不飽和基を有する化合物：例えば、

      (1) 分子量400～6000のポリエチレングリコール1モルの両  
末端水酸基を（メタ）アクリル酸2モルでエステル化したポリエチレン  
グリコールジ（メタ）アクリレート類。

10       (2) 分子量200～4000のポリプロピレングリコール1モルの  
両末端水酸基を（メタ）アクリル酸2モルでエステル化したポリプロピ  
レングリコールジ（メタ）アクリレート類。

      (3) 分子量400～6000のポリエチレングリコール1モルの両  
末端水酸基をトリレンジイソシアネート、キシリレンジイソシアネート、  
15   イソホロンジイソシアネート等のジイソシアネート化合物2モルでウレ  
タン化し、次いで（メタ）アクリル酸2-ヒドロキシエチル等の不飽和  
モノヒドロキシエチル化合物2モルを付加した不飽和ポリエチレングリ  
コールウレタン化物。

      (4) 分子量200～4000のポリプロピレングリコール1モルの  
20   両末端水酸基をトリレンジイソシアネート、キシリレンジイソシアネー  
ト、イソホロンジイソシアネート等のジイソシアネート化合物2モルで  
ウレタン化し、次いで（メタ）アクリル酸2-ヒドロキシエチル等の不  
飽和モノヒドロキシ化合物2モルを付加した不飽和ポリプロピレングリ  
コールウレタン化物、など。



(ii) 高酸価不飽和ポリエステル樹脂：

不飽和多価カルボン酸を含む多価カルボン酸成分と多価アルコールとのエステル化により得られる酸価が40～200の不飽和ポリエステルの塩類など。

5 (iii) 高酸価不飽和エポキシ樹脂：

エポキシ樹脂と(メタ)アクリル酸などの不飽和カルボキシル化合物との付加反応物に残存するヒドロキシル基に酸無水物を付加して得られる酸価40～200の不飽和エポキシ樹脂など。

(iv) アニオン性不飽和アクリル樹脂：

10 (メタ)アクリル酸及び(メタ)アクリル酸エステルから選ばれる少なくとも2種の(メタ)アクリル系モノマーを共重合させて得られるカルボキシル基、リン酸基及び／又はスルホン酸基を含有する共重合体に光重合可能なエチレン性不飽和基を導入した樹脂など。

(v) 不飽和ポリアミド：

15 トリレンジイソシアネート、キシリレンジイソシアネートなどのジイソシアネートとアクリル酸2-ヒドロキシエチルなどの不飽和ヒドロキシ化合物との付加物をゼラチンなどの水溶性ポリアミドに付加反応させた不飽和ポリアミドなど。

20 以上に例示した如き光硬化性樹脂はそれぞれ単独で 사용할 ことができ、或いは2種もしくはそれ以上組み合わせて使用してもよい。

これらの光硬化性樹脂のうち、本発明において特に有利に使用しうるものは、前記(1)のポリアルキレングリコールの両末端に光重合可能なエチレン性不飽和基を有する化合物であり、代表的なものとしては、関西ペイント株式会社からENT-1000、ENT-2000、EN

T-4000、ENTG-2000、ENTG-3800等の商品名で販売されているものを挙げることができる。

#### (b) 光重合開始剤

上記(a)に述べた光硬化性樹脂の光重合反応を促進する目的で、本発明に従う液状組成物には光重合開始剤を含ませる。使用しうる光重合開始剤は、光照射により分解してラジカルを生成し、このものが重合開始種となって重合性不飽和基を有する樹脂間に橋かけ反応をおこさせるものであり、例えば、ベンゾインなどの $\alpha$ -カルボニル類；ベンゾインエチルエーテルなどのアシロインエーテル類；ナフトールなどの多環芳香族化合物類；メチルベンゾインなどの $\alpha$ -置換アシロイン類；2-シアノー-2-ブチルアゾホルムアミドなどのアゾアミド化合物類などをあげることができる。

#### (c) 水溶性高分子多糖類

本発明において使用する水溶性高分子多糖類は、水溶性であり、水性媒体中で多価金属イオンと接触したときに水に不溶性又は難溶性のゲルに変化する能力のある高分子多糖類で、一般に約3000～約2000000の分子量を有し、また、多価金属イオンと接触させる前の水溶性の状態で通常少なくとも約10g/l(25℃)の溶解度を示すものが好適に使用される。

かかる特性をもつ水溶性高分子多糖類の具体例としては、アルギン酸のアルカリ金属塩、カラギーナン等が包含される。

これら水溶性高分子多糖類は水性媒体中に溶解した状態で、カラギーナンの場合は、カリウムイオンまたはナトリウムイオン等のアルカリ金属イオンによって、またアルギン酸のアルカリ金属塩の場合はマグネシ

ウムイオン、カルシウムイオン、ストロンチウムイオン、バリウムイオン等のアルカリ土類金属イオン；或いはアルミニウムイオン、セリウムイオン、ニッケルイオン等の他の多価金属イオン；のうちの少なくとも1種の多価金属イオンと接触するとゲル化しうる。

- 5      ゲル化が起るアルカリ金属イオン又は多価金属イオンの濃度は水溶性高分子多糖類の種類等により異なるが、一般には0.01～5mol/lである。

#### 液状組成物

- 10      上記（a）、（b）及び（c）の各成分は、水性媒体中で相互に十分に混合することにより液状組成物にすることができる。使用しうる水性媒体としては、水または緩衝水溶液が好適であるが、水溶性アルコール類、水溶性ケトン類等を用いることもできる。

- 15      上記（a）、（b）及び（c）の各成分の相互の使用割合は厳密に制限されるものではないが、通常、光硬化性樹脂100重量部に対し、光重合開始剤は0.01～5重量部、水溶性高分子多糖類は0.1～15重量部の割合で混合するのが好ましい。

上記方法で得られた液状組成物は、後記する粒状担体製造装置によって粒状物に成形される。

- 20      かくして得られる微生物菌体固定化用粒状担体は、微生物が担体に容易に付着するには、担体表面が適当な親水－疎水バランスを持つことが必要であり、この表面特性は担体表面とn-パラフィンとのなす接触角で表わすことができ、2°～30°の範囲内に調整される。担体表面とn-パラフィンとのなす接触角は、担体表面にn-パラフィンを1滴滴下し接触角測定器を用いて容易に測定することができる。また粒状担体

の比重が1.00～1.20の範囲内にあり、発酵槽又はバイオリアクター内でスムーズに流動することができる。

また、該微生物菌体固定化用粒状担体は、担体表面とn-パラフィンとのなす接触角が2°～30°の範囲内にあることによって、微生物の付着に適し剥落し難い表面を示すものである。

該担体への微生物菌体の固定化は、例えば、微生物が懸濁している発酵槽またはバイオリアクターに担体を投入し、付着させるだけで簡単に行なうことができる。また、培地中にあらかじめ担体を投入しておき、微生物を植菌後培養する方法でも行なうことができる。或いは培養槽に該担体を投入し、微生物の付着を行った後、バイオリアクターに投入することもできる。培養槽、発酵槽、バイオリアクター等に投入する該担体の量は、特に規定されるわけではないが、通常、培地の1容量%から60容量%の範囲内が好ましい。

また、微生物菌体の固定化を包括法によって行う場合は、前記した(a)、(b)及び(c)からなる液状組成物中に微生物菌体を含有させておくことによって容易に固定化粒状担体を得ることができる。

該担体は、流動層型のバイオリアクターまたは攪拌型の発酵槽等を使用するのが最も適しているが、固定床型のバイオリアクター、発酵槽等に応用することも可能である。

本発明の微生物菌体固定化用担体は、表面の構造が微生物の付着に適しており、微生物を大量に付着させることができる。該担体に付着させる微生物は、特に限定されず、嫌気性微生物、好気性微生物のどちらにも用いることができる。微生物の種類としては、アスペルギルス属、ペニシリウム属、フザリウム属などのカビ類、サッカロミセス属、ファ

フィア属、カンジダ属などの酵母類；サイモナス属、ニトロソモナス属、ニトロバクター属、パラコッカス属、ビブリオ属、メタノサルシナ属、バチルス属などの細菌類等を挙げることができる。

次に、本発明に従う粒状担体製造装置は、複数の略鉛直に配置された透明管を用いたもので、生産効率が高く、スパイラル管に比べて管内の粒子分配状態が良く、照射効率が高い。

本発明に従う粒状物製造装置は、また、流路が直線上で単純なので、透明管材質として耐久性の高い石英ガラス、パイレックスガラス等のガラスの使用が可能となり、装置の大型化にも対応が可能である。

#### 10 図面の簡単な説明

図1は、従来の粒状物製造装置の一例の簡略正面図。

図2は、本発明の粒状物製造装置の簡略正面図。

図3は、本発明の粒状物製造装置に使用される光照射装置の一態様の平面図（A）及び一部を切り欠いた正面図（B）。

15 図4は、本発明の粒状物製造装置に使用される光照射装置の他の態様の平面図。

図5は、本発明の粒状物製造装置に使用される光照射装置の他の態様の平面図。

20 図6は、本発明の粒状物製造装置に使用される光照射装置の他の態様の平面図（A）及び正面図（B）。

図7は、本発明の粒状物製造装置に使用される光照射装置の他の態様の正面図。

図8は、本発明の粒状物製造装置に使用される固液分離器の一態様の正面図。

図 9 は、本発明の粒状物製造装置に使用される固液分離器の他の態様の正面図。

図 10 は、本発明の粒状物製造装置に使用される固液分離器の他の態様の正面図。

5 発明を実施するための最良の形態

次に、図 2 を参照して、本発明の好適実施例に従う粒状担体製造装置を説明する。

10 この粒状担体製造装置は、液状組成物を収容するタンク 118 と、滴下装置 120 及びゲル化容器 122 を備えたゲル化装置 123 と、粒状ゲルに紫外線を照射して、これを硬化せしめて粒状物を形成する光照射装置 112 と、形成された粒状物を補集する補集タンク 138 と、補集  
15 タンク 138 から粒状物及び水性媒体を送り出す循環ポンプ 148 と、循環ポンプ 148 から粒状物及び水性媒体を受け取り、これらを分離する固液分離器 150 と、固液分離器 150 から粒状物を受け取る回収容器 152 とを具備する。上記液状組成物は、必要に応じて酵素又は微生物菌体を予め含有させておいてもよい。

20 タンク 118 は、液状組成物を均一な状態で保持するように、攪拌羽根（図示せず）を備えているのが、好ましい。液状組成物は、タンク 118 から、輸送用チューブ 124 及びポンプ 126 を介して、滴下装置 120 に供給される。滴下装置 120 は、所定量の液状組成物を保持するようになっていて、過剰な液状組成物は、排出チューブ 128 を介してタンク 118 に戻される。

滴下装置 120 は、下方位置に細いノズル 130 を複数個、例えば 5 個備えていて、これらのノズル 130 の先端から液状組成物が滴下する

ようになっている。滴下装置は、このような型式の装置に限らず、遠心力を利用して液状組成物をノズルの先端から飛散させる装置、スプレーノズルの先端から液状組成物を霧化して粒状として滴下する装置なども利用することができる。

5       ゲル化容器 1 2 2 は、図示したとおりに、滴下装置 1 2 0 の下に配置されており、液状組成物をゲル化させる上記のアルカリ金属イオンまたは多価金属イオンを含有する水性媒体を収容する。即ち、滴下装置 1 2 0 によって形成された、酵素又は微生物菌体を含む液状組成物の液滴は、ゲル化容器 1 2 2 に収容された多価金属イオンを含有する水性媒体中に  
10       落下して、ゲル化する。ゲル化容器 1 2 2 の底面は、光照射装置 1 1 2 に設けられる透明管の数に応じた数の凹部を有し、形成されたゲル化粒子が重力及び循環ポンプ 1 4 8 の吸引力によってこれらの凹部の中央部に集まるようになっている。ゲル化容器 1 2 2 の凹部のそれぞれの中央部分の下には、チューブ 1 3 1 が接続されており、上記のとおり形成  
15       されたゲル化粒子が、光照射装置 1 1 2 に送られる。

光照射装置 1 1 2 は、光源と、略鉛直に配置された透明管とを備えている。この光照射装置 1 1 2 の詳細は、後に詳述する。粒状ゲルは、複数の透明管内を通過する間に、近くに配置された光源から紫外線が照射され、粒状ゲル中の光硬化性樹脂が光重合反応を起こし、強度の大きな  
20       粒状物が製造される。

透明管を通過した粒状物は、補集タンク 1 3 8 に集められた後、循環ポンプ 1 4 8 中を通過して、水性媒体とともに固液分離器 1 5 0 に送られる。

この循環ポンプ 1 4 8 は、粒状物を破壊することのないような内部構

造を有する、例えば、スネークポンプ、ホースポンプ等が望ましい。また、例えば、循環ポンプ 148 の流量を抑制することにより、粒状ゲルの透明管内の通過時間をコントロールできるように構成することができる。

5 粒状物と水性媒体は、固液分離器 150 で分けられて、粒状物は循環経路からはずれた回収容器 152 で連続的に集められ、水性媒体はゲル化容器 122 に返送される。

従って、この粒状物製造装置では、粒状物を自動的かつ連続的に系外へ取り出せるので、粒子物の排出操作が極めて容易である。更に水性媒体は大部分が粒状ゲルと分離され、ゲル化容器に返送されるため、粒状物の表面に付着して系外へ持ち出されたわずかな分を捕えばよく、補給操作が簡単である。

次に、図 3～図 7 を参照して、本発明に従う粒状物製造装置に使用することができる光照射装置の態様を、詳述する。

15 図 3 は、第 1 の態様に従う光照射装置 112 a を示す。図 3 の A は、この光照射装置の平面図であり、B は、反射板 166 を中央で切り欠いた正面図である。この光照射装置 112 a は、光源 162 と、光源 162 を取り囲んで等距離に配置された 12 本の透明管 164 と、透明管 164 の外側に位置する円筒状の反射板 166 を備えている。反射板 166、光源 162 からの光エネルギーを有効に活用できるようにしている。

20 透明管 164 の上端は、それぞれ、図 2 に示したチューブ 131 に連結されている。この光照射装置 112 a の光源 162 及び透明管 164 の配置は、光源 162 からのエネルギーを、極めて効率よく、透明管内を通過する粒状ゲルに与えることができる。透明管 164 の太さは、粒状



ゲルが通過するのに十分な寸法を有すれば良い。また、光源 1 6 2 及び反射板 1 6 6 に対する透明管 1 6 4 の相対的寸法を大きくして、隙間を少なくし、光の有効利用を図ることもできる。

図 4 は、第 2 の態様に従う光照射装置 1 1 2 b を平面図で示す。この  
5 光照射装置 1 1 2 b は、光源 1 7 2 と、光源 1 7 2 の前に等間隔で一列に配置された 5 本の透明管 1 7 4 と、光源 1 7 2 の後方に位置する半円筒状の反射板 1 7 6 と、透明管 1 7 4 の後方に位置する平板状反射板 1 7 8 とを備えている。光源 1 7 2 の後方の反射板 1 7 6 は、各透明管 1 7 4 への、光源 1 7 2 からの光エネルギーがほぼ等しくなるよう光強度  
10 分布を調整する。透明管 1 7 4 の後方の反射板 1 7 8 は、透過した光を反射させて光エネルギーの有効活性を図るためのものである。この光照射装置 1 1 2 b は、光源 1 7 2 の光強度が経時で変化してきた場合などに、光源 1 7 2 と透明管 1 7 4 との距離を調整し、所定の光強度を容易に維持することができる。

15 図 5 は、第 3 の態様に従う光照射装置 1 1 2 c を平面図で示す。この光照射装置 1 1 2 c は、図 4 に示したとおりに、1 列に配置した透明管は管を複数本独立に並べるのではなく、透明ダクトを壁で仕切り、複数本の管路で透明管 1 8 4 が形成されている。この光照射装置 1 1 2 c の他の構造は、図 4 に示した光照射装置 1 1 2 b と同様である。図 4 に示したとおりに、透明管 1 7 4 を独立に並べる場合、透明管 1 7 4 の部で  
20 持続スペースを要するため、透明管 1 7 4 と透明管 1 7 4 との間にすき間ができ、空間がむだになるが、図 5 に示した光照射装置 1 1 2 c は、このようなむだがない。

図 6 は、第 4 の態様に従う光照射装置 1 1 2 d を示す。図 6 の A はこ

の光照射装置の平面図であり、Bは正面図である。図6に示した光照射装置112dは、1列に配置した透明管194のすき間を通して、光源192から紫外線を直接照射する位置にさらに1列の透明管195を配置し、空間のむだをなくすことにより、粒状物の生産量向上が可能となる。

図6のように2列に透明管194、195を配置すると、光源192に遠い位置の列の透明管195は近い位置の列の透明管194に比べ光強度が若干弱いため、光硬化反応に差を生じることがある。このような場合には、図7に示したとおりに、光源202、203を複数個鉛直方向に配置し、各光源の位置を透明管204、205に対し、交互にすることで光照射エネルギーの均一化をはかることができる。この態様では、右の透明管204を通過する粒状物は、上流では光源から近いが、下流では光源から遠くなる。

次に、図8及び図9及び図10を参照して、本発明の粒状物製造装置に使用することができる固液分離器の態様を説明する。図8は、第1の態様の固液分離装置150aを示す。この固液分離装置150aは、2つのホイール212、214に支持されたエンドレスベルト216を備えている。このエンドレスベルトは網で形成されており、供給された粒状物は支持し、液体分である水性媒体は通過せしめる。エンドレスベルト216は、図8に示したとおり、ゲル化容器122側で低く、回収容器152側で高くなっており、エンドレスベルト216の上面が、ゲル化容器122から回収容器152へ方向に動くように、駆動される。この固液分離装置150aのエンドレスベルト216の上に粒状物と水性媒体が供給されると、粒状物はこの装置の端部で回収容器152内に

落下し、水性媒体はエンドレスベルト 2 1 6 を通過して、ゲル化容器 1 2 2 へ返送され、繰り返し使用される。

図 9 は、第 2 の態様の固液分離装置 1 5 0 b を示す。この固液分離装置 1 5 0 b は、斜めに配置された直方体の箱 2 1 8 から形成されており、その上面は開口しており、下面 2 2 0 は、ネットで形成されており、下方に位置する 1 つ側面に出口開口 2 2 2 が設けられており、他の 3 つの側面は平板で形成されている。この固液分離装置 1 5 0 b は、上面の開口から、ネットで形成された下面 2 2 0 上に粒状物と水性媒体とが供給され、粒状物は自重ですべり落ちながら、出口開口 2 2 2 から回収容器 1 5 2 に落下し、集められ、水性媒体はネットを通過してゲル化容器 1 2 2 へ返送される。

図 1 0 は、第 3 の態様の固液分離器 1 5 0 c を示す。

この固液分離器 1 5 0 c は、粒状物と水性媒体との混合物輸送経路の一部に設けられた円筒状の網 2 2 4 と、その網を覆い、下部に開口部を有する箱 2 2 6 から形成されている。この固液分離装置 1 5 0 c では、下方から粒状物と水性媒体が供給されると、水性媒体は網を通過して、箱 2 2 6 下部の開口部からゲル化容器に返送され、粒状物は上方に押し出されて出口開口 2 2 8 から回収容器 1 5 2 に落下して集められる。

本発明で製造された粒状物に微生物あるいは酵素等を固定する方法としては、製造した粒状物を微生物あるいは酵素を含む液と混合して粒状物表面に付着させる方法や、液状組成物内に微生物または酵素を混合した後、粒状物を製造し、内部に包括させる方法などをとることができる。

### 粒状担体の実施例

#### 実施例 1

光硬化性樹脂 ENT-2000（関西ペイント社製）150gと水100gをよく混合した後、重合開始剤のベンゾイルエチルエーテルを10g及び2%アルギン酸ナトリウム溶液50gを加えよく攪拌し液状組成物を調製した。次いで本発明の製造装置を用いて比重1.01及びn-パラフィンとのなす接触角24°の粒状の微生物菌体固定化用担体を得た。

金属イオンを含有する水性媒体としては3%塩化カルシウム溶液を用いた。

ついで、500ml三角フラスコにGY-10培地（酵田エキス1g/l、グルコース100g/lからなる）を100ml加え、それに上記で得た微生物菌体固定化用粒状担体10gを加えた後、2%の濃度でザイモナス モビリス IFO13756を加え、30℃で24時間静置賦活培養を行った。

一方、比較のために担体として、セライト（和光純薬工業社製）及びキチン（和光純薬工業社製）を用いて同様の賦活培養を行った。

賦活後、それぞれの担体の表面を蒸留水で洗浄した後、賦活発酵液を新しい培地と交換し、24時間、静置培養を行い、下記に示すように、後のエタノール濃度を比較した。その結果、実施例1で製造した粒状担体が最も高いエタノール濃度を示した。

<u>担 体</u>	<u>エタノール濃度</u>
実施例1	7.5%
セライト	4.8%
キチン	4.1%

#### 実施例2

光硬化性樹脂 ENTG-3800（関西ペイント社製）150 g と水  
60 g をよく混合した後、重合開始剤ダロキュア 1173（チバガイギ  
ー社製）6 g 及び 2% アルギン酸ナトリウム溶液 50 g を加えよく攪拌  
し液状組成物を調製した。ついで、本発明の製造装置を用いて比重 1.  
5 01 及び n-パラフィンとのなす接触角が 10° の微生物菌体固定化用  
担体を得た。

金属イオンを含有する水性媒体としては 3% 塩化カルシウム溶液を用  
いた。

ついで、流動層型バイオリアクター（容量 10 ℓ）中に上記で作成し  
10 た粒状担体 1 ℓ とサッカロミセス セルビシエ IFO 0203 の懸濁  
液 500 ml を加え、5 ℓ の GY-10 培地（酵母エキス 1 g/ℓ、グ  
ルコース 100 g/ℓ からなる）に 200 g/ℓ のグルコース濃度で加  
えた培地を滞留時間 15 時間、通気速度 1 vvm になるように通液し、  
24 時間の賦活運転を行った。賦活終了後、滞留時間 5 時間、30℃ で  
15 連続運転を行った。70 g/ℓ 以上の濃度でエタノールを安定に生産で  
きた。

### 実施例 3

実施例 1 において調製された液状組成物に、ザイモモナス モビリス  
IFO 13756 を 15 重量部加えたものを液状組成物として用いる  
20 以外は実施例 1 と同様の方法で比重 1.01 の微生物菌体包括固定化粒  
状担体を得た。

### 発明の効果

本発明によって提供される微生物菌体固定化用担体は、比重が 1.0  
0～1.20 と小さく且つ担体の表面を n-パラフィンとのなす接触角

で $2^{\circ} \sim 30^{\circ}$ の範囲内に特定されており、微生物が付着しやすく、しかも剥落し難いので、これを用いて微生物菌体を固定化した担体を使用すると、上記実施例から明らかなように安定な微生物反応を行なうことができる。また、本発明の担体は比重が小さいため、流動床型のリアクターにも容易に適用することができる。

さらに、本発明の製造装置によれば、液中を連続的に移動する粒状ゲルに対し、効率的に紫外線を照射することができるので、工業的な粒状物大量製造方法として広く利用することができる。

## 請求の範囲

1. (a) 1分子中に少なくとも2個のエチレン性不飽和結合を有する親水性光硬化性樹脂、(b) 光重合開始剤、及び(c) アルカリ金属イオンまたは多価金属イオンとの接触によりゲル化する能力のある水溶性高分子多糖類を含んでなる液状組成物を、アルカリ金属イオンまたは多価金属イオンを含有する水性媒体中に滴下して該組成物を粒状にゲル化し、活性光線を照射して硬化せしめてなる、比重が1.00～1.20で且つ表面がn-パラフィンとのなす接触角が2°～30°であることを特徴とする微生物の付着に適した表面を有する微生物菌体固定化用粒状担体。
2. 親水性光硬化性樹脂(a)が、ポリアルキレングリコールの両末端に光重合可能なエチレン性不飽和基を有する化合物が結合してなる樹脂である請求項1の粒状担体。
3. 光重合開始剤(b)が、 $\alpha$ -カルボニル類、アシロインエーテル類、多環芳香族化合物類、 $\alpha$ -置換アシロイン類及びアゾアミド化合物類である請求項1の粒状担体。
4. 水溶性高分子多糖類(c)がアルギン酸のアルカリ金属塩及びカラギーナンである請求項1の粒状担体。
5. 多価金属イオンがアルカリ土類金属イオンである請求項1の粒状担体。
6. 液状組成物が微生物菌体を含有する請求項1記載の微生物菌体固定化粒状担体。
7. (a) 1分子中に少なくとも2個のエチレン性不飽和結合を有する親水性光硬化性樹脂、(b) 光重合開始剤、及び(c) アルカリ金属

イオンまたは多価金属イオンとの接触によりゲル化する能力のある水溶性高分子多糖類を含んでなる液状組成物を、アルカリ金属イオンまたは多価金属イオンを含有する水性媒体中に滴下して該組成物をゲル化して粒状ゲルを形成するゲル化装置と、該ゲル化装置によって形成された粒状ゲルに紫外線を照射して、粒状ゲル中の光硬化性樹脂を硬化させて粒状物を形成する光照射装置とを具備する粒状物製造装置において、

該光照射装置が、光源と、該光源に接近して略鉛直に配置され、上記粒状ゲルが内部を移動せしめられる複数の透明管を備えていることを特徴とする粒状担体製造装置。

8. 該透明管が、該光源を中心とした等距離の位置で、該光源を取り囲んで配置されている請求項7の粒状担体製造装置。

9. 該透明管が、1列に配置されている請求項7の粒状担体製造装置。

10. 1列に配置した該透明管のすき間を通して紫外線を直接照射できる位置にさらに1列の透明管が配置されている請求項7の粒状担体製造装置。

11. 該光源が鉛直方向に複数個配置されており、その位置が該透明管に対し交互の位置である請求範囲9又は10の粒状担体製造装置。

12. 該光照射装置に、該粒状物及び該水性媒体を移動搬送するポンプが連結されている請求項7の粒状担体製造装置。

13. 該光照射装置を通過した後の該粒状物と該水性媒体とを分離し、該粒状物を回収容器に送り、該水溶性媒体をゲル化装置に送る固液分離器を具備する請求項7の粒状担体製造装置。



1 4. 該液状組成物が、酵素又は微生物菌体を含む請求項 7 の粒状担体製造装置。

5

10

15

20

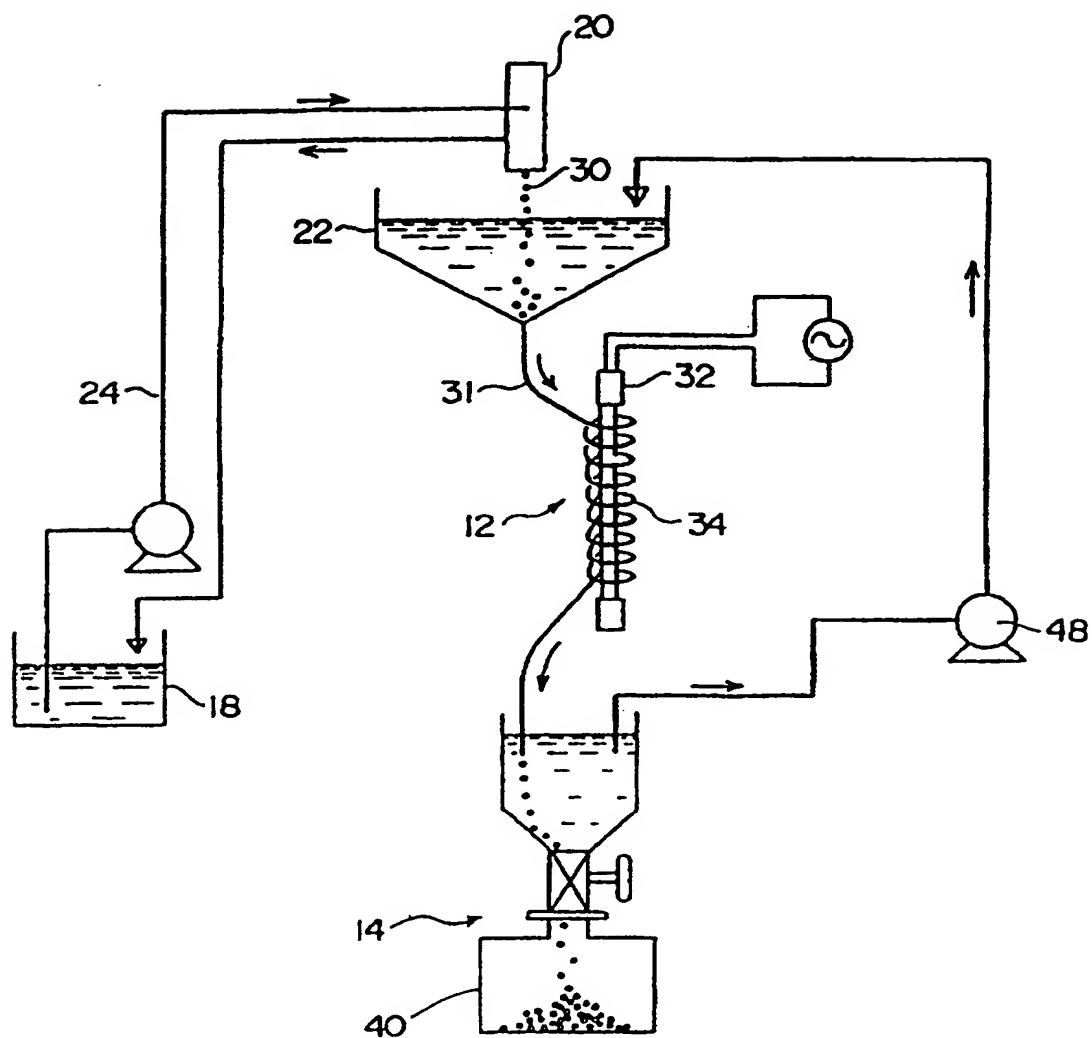


図 1

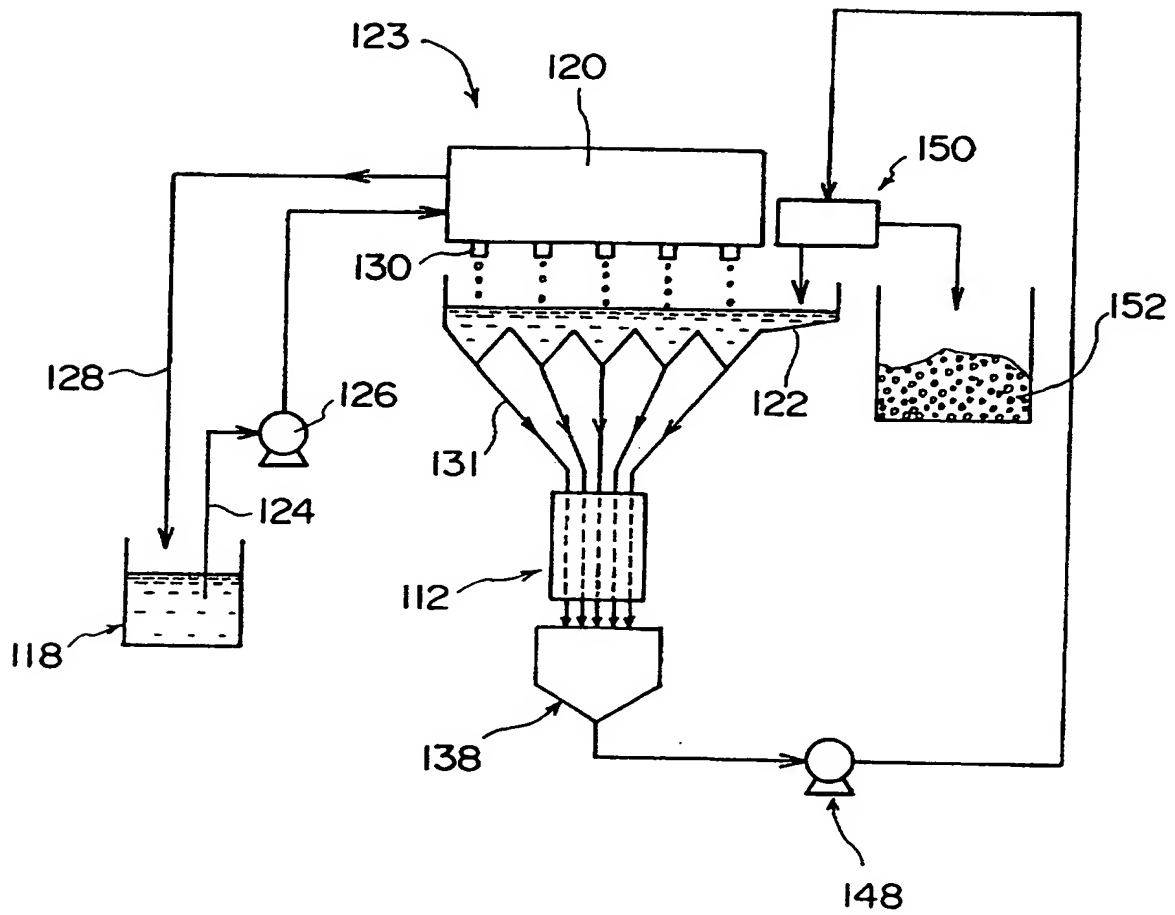
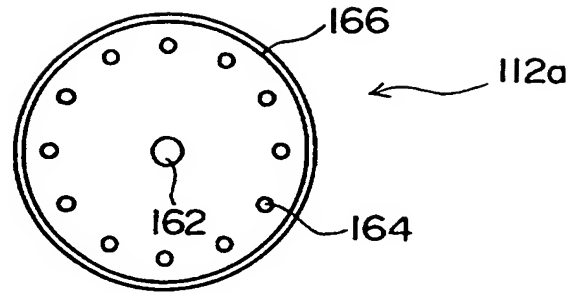


図 2

図 3 A



B

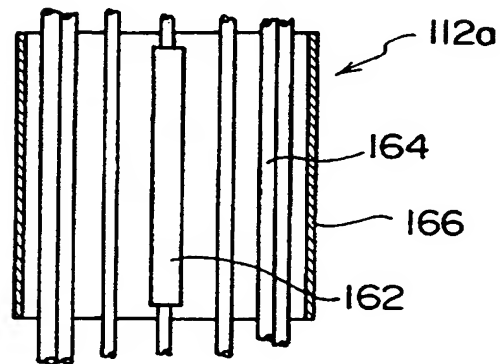


図 4

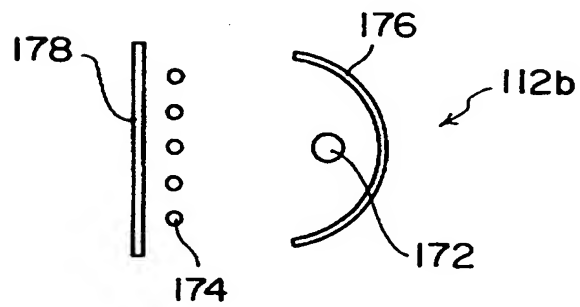


図 5

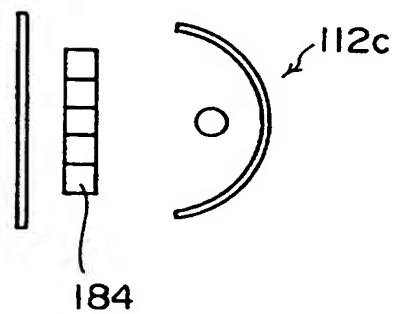


図 6

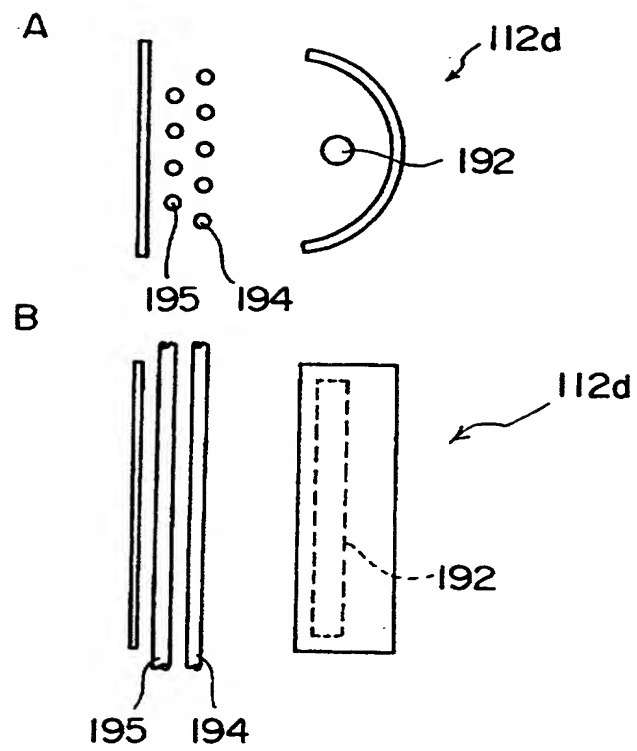


図 7

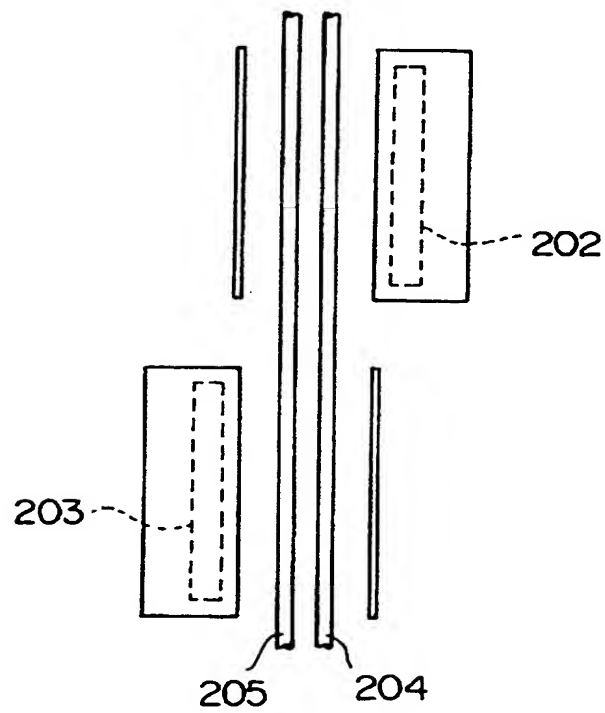


図 8

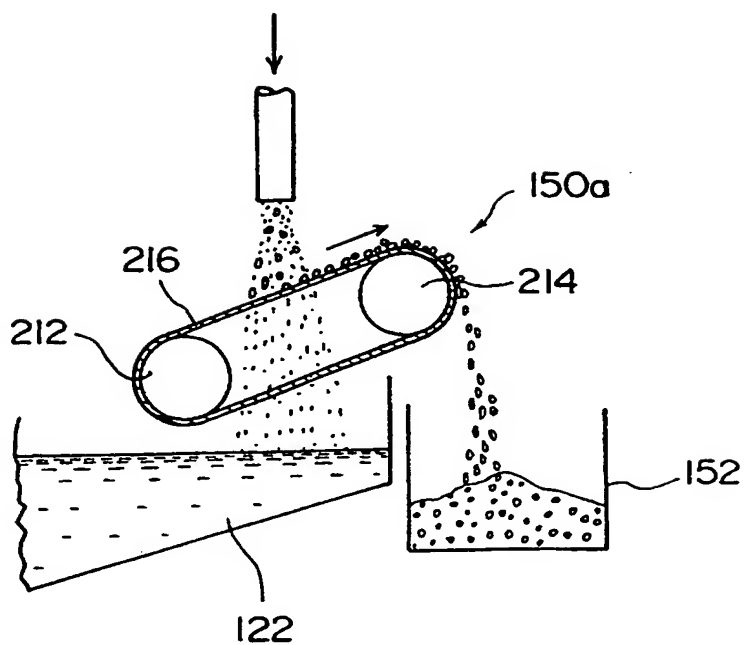
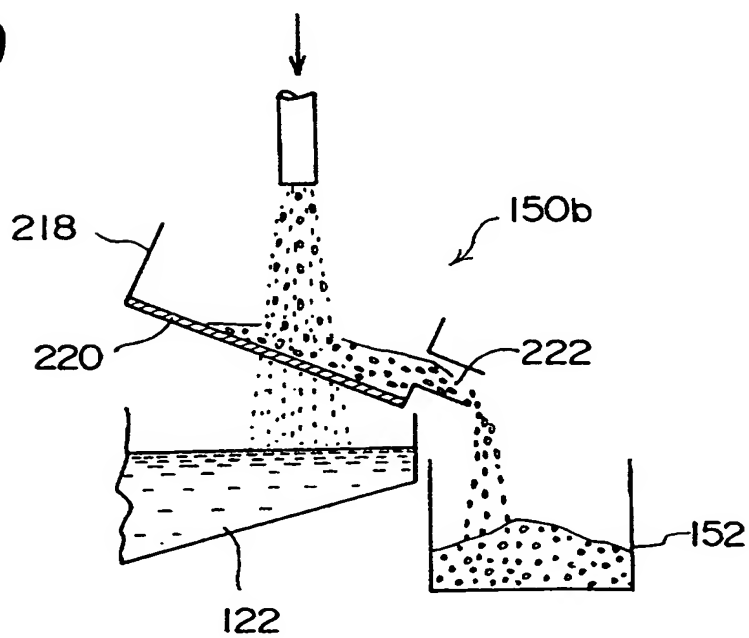


図 9



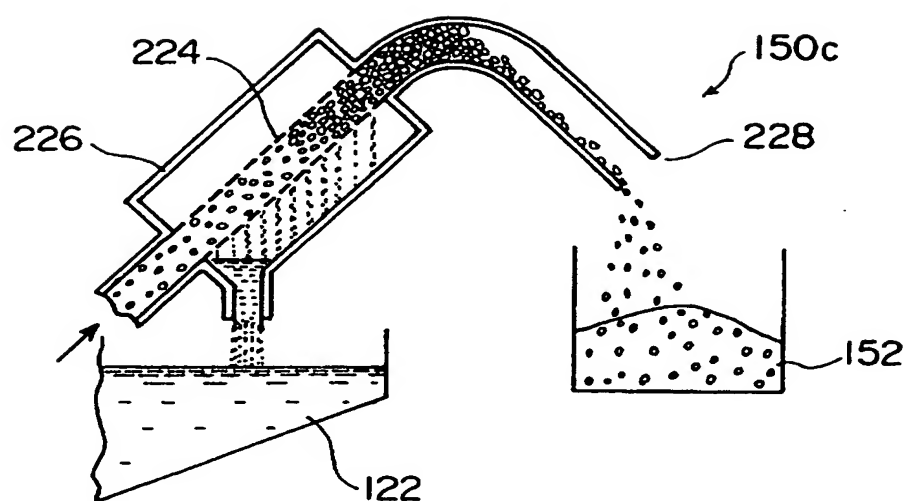


図 1 0

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP96/03439

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. C1<sup>6</sup> C08J3/14, C12N11/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. C1<sup>6</sup> C08J3/00-3/28, C12N11/00-11/18

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926 - 1997
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971 - 1997
Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994 - 1997

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 60-106836, A (Kansai Paint Co., Ltd.), June 12, 1985 (12. 06. 85), Page 1, lower left column, line 5 to lower right column, line 6; drawings (Family: none)	1 - 14

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

February 18, 1997 (18. 02. 97)

Date of mailing of the international search report

February 25, 1997 (25. 02. 97)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>8</sup> C08J3/14, C12N11/04

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>8</sup> C08J3/00-3/28, C12N11/00-11/18

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1997年  
 日本国公開実用新案公報 1971-1997年  
 日本国登録実用新案公報 1994-1997年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP. 60-106836, A (関西ペイント株式会社), 12. 6月. 1985 (12. 06. 85), 第1頁左下欄第5行-同頁右下欄第6行, 図面 (ファミリーなし)	1-14

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

18. 02. 97

国際調査報告の発送日

25.02.97

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

森川 聡

4F

9268

電話番号 03-3581-1101 内線 3432